

Az első két pont a növekedési hormon (GH)-felszabadító hormon (GHRH)-alvás témában végzett korábbi kutatásaink eredményeit tartalmazza, melyek szervesen kapcsolódnak a jelen pályázathoz, és már ezen pályázat nyilvántartási számával (OTKA T 043156) lettek publikálva.

1. A szomatosztatinerg ingerlés ivási és alvási hatása (1):

A szomatosztatin a növekedési hormon szekrécióját gátló neurohormon és az agyban mindenütt előforduló neurotranszmitter. Korábban beszámoltunk arról, hogy a szomatosztatin-analóg octreotid (OCT) agykamrába történő injekciója ivást, vazopresszinszekréciót és vérnyomásemelkedést okoz patkányban, és gátolja az alvást. Míg az alvásgátlást a hypothalamikus GHRH-sejtek gátlásának tulajdonítjuk, a többi hatás az intracerebrális angiotenzinerg rendszer aktivációjára utal. Kimutattuk, hogy az OCT valóban angiotenzin-felszabadulást okoz a hypothalamusban. Ezen kísérleteink folytatásaként mikroinjekciók segítségével feltérképeztük az OCT alvási és ivási hatásának mediálásában részt vevő struktúrákat. Hím Sprague-Dawley patkányok agyának különböző területébe mikroinjekciók segítségével OCT-t adtunk. Meghatároztuk az injekciót követő 10 percben a vízfelvételt, és regisztráltuk a nappali 12 órás periódusban az alvás-ébrenléti aktivitást. A vízfelvételt serkentő pontok a subfornicalis szerv környékén és a hypothalamikus paraventricularis nucleus közelében, a 3. agykamra dorsalis része mentén helyezkedtek el. Ezzel szemben alvásgátlást a nucleus arcuatus, az anterior hypothalamus és a medialis praeopticus régióba történő injekciók után figyeltünk meg, és ezek az injekciók ivást nem váltottak ki. Az ivási és alvási pontok eloszlása megfelel az intracerebrális angiotenzinerg és GHRH-erg rendszer lokalizációjának.

2. Az interleukin-1 β hatása a GHRH-receptor expressziójára (2):

Az interleukin-1 β -nak, mint akutfázis-citokinnek, fontos szerepe lehet a fertőző megbetegedéseket kísérő álmoság-alvásfokozódás kialakulásában. Korábbi, egereken végzett kísérleteink demonstrálják a GHRH-rendszer fontosságát a fertőzésre, legalábbis az influenzafertőzésre adott alvási válaszban. Feltételezzük, hogy a felszabaduló citokinek a GHRH vagy a GHRH-receptor expresszióját stimulálják. Ennek alátámasztására végeztünk in vivo és in vitro kísérleteket, melyek azt mutatták, hogy az interleukin-1 β valóban serkenti a GHRH-receptor mRNS expresszióját a hypothalamusban.

3. A ghrelin hatása az alvásra, valamint a ghrelin alvási, evési és endokrin hatásai közötti kapcsolat (3, 4):

A ghrelin a somatotrop rendszer új tagja, a növekedési hormon-szekretoros receptor endogén ligandja, amely a gyomornyálkahártya endokrin sejtjeiből szabadul fel. A ghrelin – a GHRH-hoz hasonlóan – serkenti a növekedési hormon szekrécióját. A ghrelin ezen kívül neurotranszmitter a nucleus arcuatusban, valamint serkenti a táplálékfelvételt, mely hatást az neuropeptid Y (NPY)-tartalmú neuronok ingerlésének tulajdonítanak. Mivel az alvás és a szomatotrop rendszer között szoros kapcsolat van, célkitűzésünk a ghrelin alvásszabályozásban betöltött szerepének a vizsgálata volt.

Egyik kísérletsorozatunk célja az volt, hogy meghatározzuk a plazma és a hypothalamus ghrelintartalmának, valamint a plazma leptinszintjének napszaki ritmusát és ezt összevessük az alvás-ébrenlét és a táplálékfelvétel ritmusával 12:12 órás fény/sötét cikluson tartott patkányokban (3). Ezt követően megvizsgáltuk a fordított etetés, valamint az alvásmegvonás hatását a plazma és a hypothalamus ghrelinkoncentrációjának, valamint a plazma leptintartalmának napiritmusára. A hormonmérések szerint a plazma ghrelin és leptin csúcsa egymástól 180°-kal eltolódott, ami fordított etetés hatására megfordult: a leptin emelkedett a világos periódus során, míg a ghrelinecsúcs éjszaka volt. Az alvásmegvonás során egy éles emelkedés volt megfigyelhető mind a plazma, mind a hypothalamus ghrelinkoncentrációjában, míg a plazma leptinszintje nem változott. Eredményeink azt mutatják, hogy míg szoros összefüggés van a ghrelin és a táplálékfelvétel között, addig nincs közvetlen kapcsolat a ghrelin napszaki változása és az alvás-ébrenlét ritmusa között. Ugyanakkor az alvásmegvonás hatására a ghreline szintben bekövetkező változások a hypothalamikus ghrelin alvásszabályozásban betöltött szerepére utalhatnak.

Kísérleteink során vizsgáltuk az agykamrába adott ghrelin alvásra kifejtett hatásait (4). Eredményeink szerint a ghrelin centrális alkalmazása dóziszfüggő alvási hatást mutat. A világos periódus kezdetekor adott ghrelin gátolta mind a non-REM (NREM)-alvást, mind a REM-alvást az első 2 órában, amit egyes dózisoknál, egy órákon át tartó alvásfokozódás követett. A sötét periódus kezdetén alkalmazott ghrelin kezelés szintén csökkentette a NREM és REM alvás idejét, de a hatás nem volt olyan kifejezett, mint a világos periódus elején adott ghrelin esetében. Ezen eredmények megerősítik, hogy a ghrelinnek szerepe lehet az alvás szabályozásában.

Tanulmányoztuk centrálisan adott NPY alvás-ébrenlétre kifejtett hatását is (5). Az NPY, a ghrelinhez hasonlóan, csökkentette mind a NREM-, mind a REM-alvásban töltött időt a kezelést követő első órában, és ezzel egyidőben stimulálta a táplálékfelvételt, mely adatok

megerősítik azt a hipotézist, miszerint az NPY szerepet játszik az evés, az anyagcsere, és az alvás integrálásában.

4. Alvásfüggő Fos expresszió (6):

Kísérleteink során meghatároztuk a Fos-immunoreaktivitás napszaki ritmusát, valamint alvásmegvonás hatására bekövetkező változását a hypothalamus/preoptikus régió azon struktúráiban, melyeknek szerepe lehet az alvás szabályozásában. Eredményeink megerősítene korábbi adatokat, melyek szerint a Fos-expresszió a ventrolaterális preoptikus magban, valamint a nucleus suprachiasmaticusban napszaki ritmust mutat. Kimutattuk továbbá, hogy alvásfüggő változások figyelhetők meg más struktúrák, így a nucleus arcuatus, valamint az anterodorsalis preoptikus régió Fos-immunoreaktivitásában is, alátámasztva, hogy ezen agyterületek is részt vesznek a fiziológiás alvás mediálásában.

5. Az alvás és a GHRH-aktivitás jellemzése spontán törpe patkányokban (7):

A spontán törpe patkányokban (spontaneous dwarf rat = SDR) a GH-hiány oka a GH-gén mutációja. Ez egy olyan törpe modell, melyre fokozott GHRH-felszabadulás és GHRH-hatás jellemző. A korábbi kísérleteinkben alkalmazott modellekben (TH-hGH transzgenikus egér, *lit/lit* egér, *dw/dw* patkány) a GHRH-hatás hiánya vagy csökkent működése GH/IGF-I-hiánnyal és törpeséggel párosul. Az ezekkel a modellekkel kapott eredmények arra utalnak, hogy a krónikus szomatotrop defektusban a REM-alvás csökkenéséért a GH-hiánya felelős. A spontán törpe patkányok alvásának vizsgálata adhat arra választ, hogy a NREM-alvás-csökkenés oka valóban a GHRH-aktivitás hiánya-e, és nem a GH-hiány.

Az spontán törpe patkányokban a plazma GH-szint szinte nem volt detektálható, a hypothalamikus GHRH mRNS emelkedett, míg a GHRH-receptor mRNS alacsonyabb volt, mint a kontroll állatokban. Ugyancsak csökkent a hypothalamus GHRH tartalma a spontán törpe patkányokban. Az agykéregben a hypothalamusban találtakhoz hasonlóan alakult a GHRH és a GHRH-receptor expressziója. Az alvásvizsgálatok azt mutatták, hogy a spontán törpe patkányok a világos napszakban kevesebb időt töltenek REM-alvásban, míg a NREM-alvásban töltött idő növekszik a kontrollokhöz viszonyítva. Az agykamrába adott GHRH hatására mind a spontán törpe patkányok, mind az ép állatok esetében NREM-alvás-fokozódást tapasztaltunk. Ezzel egyidőben a REM-alvásban töltött idő, valamint a NREM-alvás intenzitásának növekedése csak a kontrolloknál volt megfigyelhető. Intracerebroventricularisan adott IGF-I injekció után NREM-alvás-fokozódás csak a kontroll állatok esetében következett be. Ezen újabb eredményeink megerősítik azt az elképzelést,

hogy a NREM-alvás szabályozásában a GHRH-nak, míg a REM-alvás és a NREM-alvás alatti EEG lassú hullámú aktivitás mediálásában a GH-nak van szerepe.

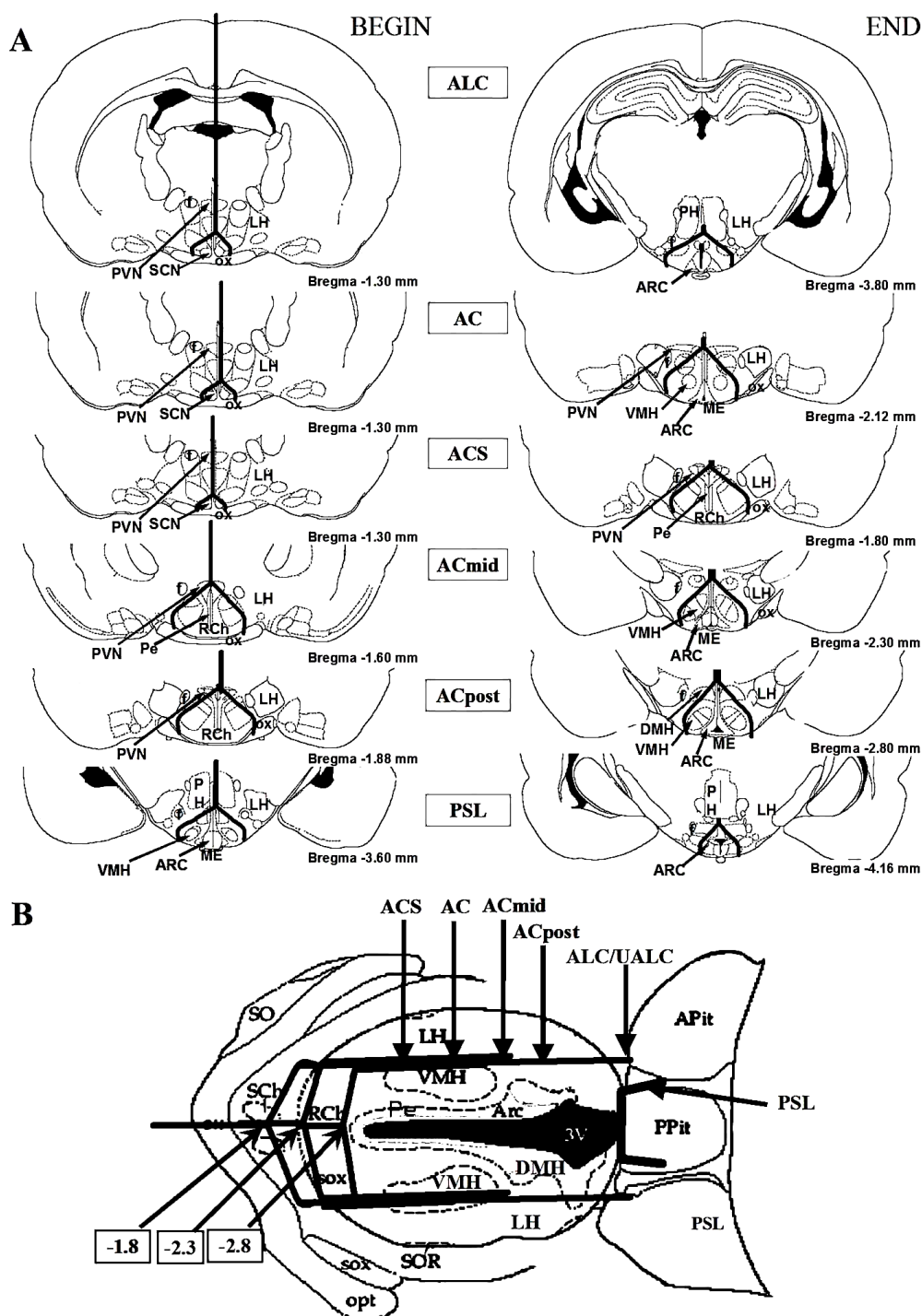
6. A mediobazális hypothalamus rostralis kapcsolatainak jelentősége a fiziológiai alvásszabályozásban:

Az alvás/ébrenlét kutatásában a mediobazális hypothalamus (MBH) – különösen a nucleus arcuatus – intenzív kutatás tárgya. Ez a terület tartalmazza a hypothalamus GHRH tartalmú sejteinek zömét, a GHRH-nak pedig jelentős NREM-alvást fokozó hatása van. Anatómiailag is alátámasztott, hogy a MBH kétirányú kapcsolattal csatlakozik a hypothalamus első feléhez (AH) és a preoptikus régióhoz (POA), mely magában foglalja az agy legfontosabb alvásszabályzó neuroncsoportjait, valamint a “belső órát”, a nucleus suprachiasmaticust (SCN). Kísérleteink célja a MBH és az AH/POA kapcsolatainak az alvásszabályozásban betöltött szerepének vizsgálata volt.

A MBH alvásszabályozási szerepének funkcionális eszként történő vizsgálatához Halász-késes technikát alkalmaztunk, hogy el tudjuk választani az elülső és oldalsó kapcsolatokat. Ehhez különböző helyzetű és hosszúságú metszéseket ejtettünk a kérdéses agyterület körül (ld. Ábra). Egy további állatcsoportban a hypophysist nyélátmetszéssel leválasztottuk a hypothalamusról. Az anterolaterális metszés (ALC) a SCN hátsó végénél kezdődött (Bregmához képest – -1.8mm) és a metszést egészen a hypophysisnyélig oldalt meghosszabbítottuk. Ez az állatcsoport jelentős NREM- és REM-alváscsökkenést mutatott. Egyetlen másik csoport sem mutatott ilyen mértékű csökkenést az alvás mennyiségében. Ugyanakkor az adatok részletes vizsgálata azt mutatta, hogy az állatok nyugalmi szakasza alatt (világos periódus) szintén NREM csökkenés észlelhető a különböző hosszúságban elvégzett anterior metszés (AC) esetén is. Ez a metszés ugyanott kezdődött, mint az ALC, csak a metszést nem hosszabbítottuk meg oldalirányban, így a MBH oldalsó kapcsolatai fennmaradtak. Azokban az állatcsoportokban, ahol az anterior metszés hátrébb került, (ACmid – -2.3mm a Bregmához és ACpost - -2.8 a Bregmához) a világos periódusban szintén NREM és REM csökkenést tapasztaltunk. A hypophysisnyél-átmetszett csoportban nem találtunk ilyen csökkenést, viszont a vízfogyasztás nagyfokú emelkedését tapasztaltuk, valószínűleg a hypophysisbe belépő vazopresszin rostok átmetszése miatt. A NREM-alvás napszaki ritmusa fennmaradt a legtöbb átmetszéses esetben, csupán az AC csoport esetében szűnt ez meg, valószínűleg a SCN direkt léziója miatt. Ezzel szemben az összes (a hypophysisnyélmetszett csoportot kivéve) csoportban eltűnt a REM-alvás napszaki ritmusa. Ezek az eredmények a SCN-ből származó két különböző kapcsolati rendszerre utalhatnak.

Négyórás alvásmegvonást követően csak két csoport: az ALC és az ACmid csoport mutatott csökkenést a rebound NREM-alvásban. A REM-alvást tekintve nem találtunk különbséget a rebound alvás alatt a csoportok között.

Ezek az eredmények, az alvásszabályozás tekintetében, a MBH és az AH/POA közötti szoros kapcsolatra utalnak, azonban a kapcsolati rendszerben résztvevő neurotranszmitter(ek) még tisztázásra szorul(nak). Ezen adataink publikálása folyamatban van.



Ábra; A Halász-késes technikával végrehajtott metszések vázlatos ábrázolása

Közlemények:

1. Hajdu I, Szentirmai E, Obal F Jr, Krueger JM:
Different brain structures mediate drinking and sleep suppression elicited by the somatostatin analog, octreotide, in rats.
Brain Res. 994:115-23, 2003.
IF: 2,296

2. Taishi P, De A, Alt J, Gardi J, Obal F Jr, Krueger JM:
Interleukin-1 β stimulates growth hormone-releasing hormone receptor mRNA expression in the rat hypothalamus in vitro and in vivo.
J. Neuroendocrinol. 16:113-8, 2004.
IF: 2,974

3. Bodosi B, Gardi J, Hajdu I, Szentirmai E, Obal F Jr, Krueger JM:
Rhythms of ghrelin, leptin, and sleep in rats: effects of the normal diurnal cycle, restricted feeding, and sleep deprivation.
Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 287:R1071-9, 2004.
IF: 3,802

4. Szentirmai E, Hajdu I, Obal F Jr, Krueger JM:
Ghrelin-induced sleep responses in ad libitum fed and food-restricted rats.
Brain Res. 1088:131-40, 2006.
IF: 2,296

5. Szentirmai E, Krueger JM:
Central administration of neuropeptide Y induces wakefulness in rat.
Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 291:R473-80, 2006.
IF: 3,802

6. Peterfi Z, Churchill L, Hajdu I, Obal F Jr, Krueger JM, Parducz A:
Fos-immunoreactivity in the hypothalamus: dependency on the diurnal rhythm, sleep, gender, and estrogen.
Neuroscience 124:695-707, 2004.
IF: 3,41

7. Peterfi Z, Obal F Jr, Taishi P, Gardi J, Kacsoh B, Unterman T, Krueger JM:
Sleep in spontaneous dwarf rats.
Brain Res. 1108:133-46, 2006.
IF: 2,296

Obal F Jr., Krueger JM:
GHRH and sleep.
Sleep. Med. Rev. 8:367-77, 2004. (Review)
IF: 3,967

Alfoldi P, Kapas L, Szentirmai E, Taishi P, Gardi J, Peterfi Z, Kacsoh B, Krueger JM:
The somatotrophic axis in sleep and thermoregulation: A tribute to Ferenc Obal, Jr. (1948-2004)
J. Therm. Biol. 31:30-9, 2006. (Review)
IF: 0,871